1957

Aus der ehemaligen Frauenklinik der Charité Berlin NW 7, Schumannstr. 20/21
(Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. F. Schopohl)
und der Städt. Frauenklinik Berlin-Neukölln, Mariendorfer Weg 28—38
(Direktor: Chefarzt Dr. E. Jung)

Cytologische und histologische Untersuchungen am atrophischen Vaginalepithel der Frau bei lokaler Applikation von Dienoestroldiacetat

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
PHILIPP BERNHARDT
aus Nizza

STANFORD MEDICAL LIBRARY

Dekan: Prof. Dr. med., Dr. h. c. Felix v. Mikulicz-Radecki
Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Hanns-Werner Boschann
Corref.: Prof. Dr. med., Dr. h. c. Felix v. Mikulicz-Radecki

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin
Promoviert am: 27. 9. 1957

A. Einleitung

Anatomisch und funktionell lassen sich zwei Phasen des Geschlechtszyklus unterscheiden; sie werden durch die Hypophyse gesteuert und finden im Ovar ihren Ausdruck in der Reifung des Follikels und der Entstehung des Gelbkörpers. Die Bildung des Follikelhormones, besonders in der Proliferationsphase, wird durch die Entwicklung und Wirkung des Corpus luteum-Hormones in der Transformationsphase ergänzt. Beide Hormone haben die Aufgabe, den Organismus und insbesondere den Uterus für die Aufnahme und Entwicklung eines befruchteten Eies vorzubereiten. Während primär das Geschlecht durch die Geschlechtschromosomen bestimmt wird, bedingen die Sexualhormone die charakteristischen sekundären Geschlechtsmerkmale des Organismus. Das sind bei der Frau extragenital die allgemeine Körperform, der Behaarungstyp, die weibliche Stimme, die Entwicklung der Brustdrüsen und das psychische Verhalten und genital die Entwicklung der Ovarien, der Tuben, des Uterus, der Vagina und der Clitoris. Wenn das Follikelhormon im jugendlichen Alter fehlt, bleibt die Entwicklung der Genitalorgane auf infantiler Stufe zurück. Kastration im geschlechtsreifen Alter führt zur Atrophie des Uterus, der Vagina und der Brustdrüsen. Dabei hören die zyklischen Veränderungen am Genitale auf. Allgemein wirkt das Follikelhormon als Wachstumshormon, besonders der glatten Muskulatur und des geschichteten Epithels. Am Uterus speziell steigert es das Wachstum der Muskulatur und bewirkt die Proliferation der Schleimhaut. Die Follikelhormonphase ist charakterisiert durch die Bildung neuer Zellen in den Schleimhäuten des Genitalschlauches.

Butenandt und seinen Mitarbeitern in Göttingen, Doisy in USA und Laqueur in Amsterdam gelang es 1929, aus biologischem Ausgangsmaterial, d. h. aus dem Harn von schwangeren Frauen, das Follikelhormon als kristalline Substanz zu isolieren. Marian in England fand 1930 die dem Oestron sehr nahestehende Verbindung Oestriol = Theelol = Trihydrooxyoestron und Doisy konnte 1935 aus dem Ovar des Schweines und später aus dem Harn gravider Frauen das Oestradiol = Dihydroxyoestron gewinnen. Girard und Mitarbeiter fanden im Harn trächtiger Stuten noch drei brunstwirksame Substanzen Equilin, Hippulin und Equilenin.

Zu dem physiologisch einheitlichen Begriff „Follikelhormon" gehören also chemisch eine ganze Reihe von Substanzen, die zwar denselben chemischen Grundkörper haben und alle imstande sind, Brunst hervorzurufen, sich in ihrer Struktur jedoch gering unterscheiden. Sie besitzen sehr verschiedene Wirkungsstärken.

Für die quantitative Bestimmung, also die Messung des Wirkungsgrades der Follikelhormone, wird die Brunstreaktion nach Allen und Doisy verwendet. Diese Methode beruht auf der Beobachtung zahlreicher Forscher, daß die Scheidenschleimhaut der kleinen Nager während des ovariellen Zyklus' besonderen Veränderungen unterliegt. Dies wurde am Meerschweinchen zuerst von Stockhart und Papanicolaou 1917, an der Ratte und Maus von Long und Evans und 1923 von Allen und Doisy beobachtet. Als Ratten- oder Mäuseeinheit wird die kleinste Menge einer Substanz bezeichnet, die imstande ist, bei mindestens 50% der Versuchstiere Brunst zu erzeugen, welche durch Vaginalabstriche leicht zu erkennen ist.

Die nachstehende Tabelle (Methodik der Hormonforschung, Christian Bomskov 1939) gibt einen Überblick über die oestrogene Wirksamkeit der bisher aus natürlichen Ausgangsmaterialien isolierten Follikelhormone und über ihr Vorkommen.

1.	Oestron	$C\,18\,H_{22}\,O_2$	(Ovarien (Schwangerenharn) (Stutenharn (Hengstharn (Palmkerne	1 ME = 0,1 γ
2.	Oestradiol	$C\,18\,H_{24}\,O_2$	(Ovarien (Stutenharn)	1 ME = 0,05 γ
3.	Oestriol	$C\,18\,H_{20}\,O_2$	(Plazenta (Schwangerenharn) (Weidenkätzchen	1 ME = 10 γ
4.	Equilin	$C\,18\,H_{20}\,O_2$	(Stutenharn)	1 ME = 0,8 (?) γ
5.	Equilenin	$C\,18\,H_{18}\,O_2$	(Stutenharn)	1 ME = 2 (?) γ

Die Wirkungsskala gilt für den Test an der Maus bei einmaliger Injektion der in 0,1 ccm sesamölgelösten Substanz und Eichung am kastrierten Tier auf Vollbrunst.

Die Follikelhormone sind aus den verschiedenen Substanzen, wie sie in der Tabelle angegeben werden, tatsächlich isoliert und analysiert worden. Dies wird besonders betont, weil oestrogene Substanzen noch in zahlreichen anderen Stoffen nachgewiesen worden sind, z. B. in Pflanzen, Kohle und Torf. Bei der fehlenden Konstitutionsspezifitätder Follikelhormone ist deshalb anzunehmen, daß sie in diesen Fällen chemisch nicht der Steroidgruppe zuzurechnen sind.

Oestradiol stellt sehr wahrscheinlich das eigentliche Follikelhormon dar, denn es besitzt die stärkste biologische Wirksamkeit und kommt in größeren Mengen im Ovar vor, während Oestron an Schwefelsäure und Oestriol in Glucuronsäure gebunden, als gepaarte Verbindungen, biologisch wenig wirksam, zum großen Teil im Harn ausgeschieden werden. Oestradiol besitzt zum Unterschied von Oestron zwei Hydroxylgruppen und soll im Allen-Doisy-Test nach

Girard sechsmal und nach David zweimal so stark wirksam sein. Oestriol = Trihydrooxyoestron besitzt nach Curtis und Doisy eine etwa ½mal schwächere Wirksamkeit als das Oestron. Bomskov gibt an, daß das Oestriol $^1/_{50}$, Butenandt sogar nur $^1/_{100}$ der biologischen Wirksamkeit besitzen soll.

Die Aktivität des Oestriols ist abhängig von den verschiedenen Lösungsmitteln. Es ist neunzigmal weniger wirksam als das Standard-Oestron in öliger Lösung und zweihundertfünfzigmal weniger in zehnprozentiger alkoholischer Lösung. Equilin soll nach Dirscherl an der kastrierten Maus genau gleichstark wie Oestron, nach David und De Jongh an der kastrierten Ratte nur $^1/_{30}$ und nach Bomskov nur $^1/_7$ so wirksam sein.

Equilenin wird biologisch für zehn- bis zwanzigmal schwächer als Oestron angesehen.

Die Wirkungsstärke der oestrogenen Substanzen ist abhängig von

1. der Applikationsart,
2. der Applikationsstelle,
3. der Anzahl und der Höhen der verabfolgten Dosen.

1. Als Sterine sind die weiblichen Sexualhormone in Wasser unlöslich und löslich in organischen Lösungen oder in Öl. Temperaturen, Luftsauerstoff, Säuren und Alkalien gegenüber zeigen sie sich sehr stabil. Durch die Bildung eines Esters, z. B. zwischen Oestradiol und Benzoesäure oder Propionsäure, wird die Wirkungsdauer verlängert. Dies erklärt man sich dadurch, daß die Ester erst allmählich verseift werden, so daß kontinuierlich nur kleinere Oestradiolmengen frei werden.

2. Die Applikationsstelle ist hinsichtlich der Dosierung von besonderer Bedeutung. Allen, Dickens, Dodds und Papanicolaou hielten bis 1926 die Follikelhormone für peroral unwirksam. Erst durch die Arbeiten von Loewe und Zondeck wurde der Beweis erbracht, daß nicht nur parenterale, sondern auch perorale Zufuhr von Follikelhormon biologische Wirksamkeit besitzt. Die Ergebnisse der Untersuchungen späterer Autoren waren sehr verschieden. Während Loewe angab, daß die peroral wirksame „Schwellenwertdosis" = „Limes oestralis" rund zwanzigfach mehr als die subkutane beträgt, fanden Glimm und Wadehn 1926 im Uterustest nur eine fünf- bis zehnmal schwächere perorale Wirksamkeit (s. Anmerkung).

Anmerkung: Als Uterustest bezeichnet man Untersuchungen an dem sehr kleinen, fadenartig dünnen und blassen Uterus infantiler oder kastrierter Kaninchen, der durch Applikation oestrogener Substanzen lang, dickwandig, hyperaemisch und schwerer wird.

Laqueur bezeichnete die orale Wirkung als 100mal,
Allen, Dickens und Doods als 25mal,
Zondeck als 5mal

geringer als die subkutane.

Außerdem berichtete Zondeck, daß die Haut imstande ist, Follikelhormon zu resorbieren, und daß die Verhältnisse

von parenteral zu Haut 1 : 7 und
von parenteral zu rektal 1 : 12 betragen.

Hohlweg gelang es durch tierexperimentelle Untersuchungen an kastrierten Rattenweibchen, denen er subkutan und per os durch Schlundsondenfütterung Extrakte aus Schwangerenharn zuführte, festzustellen, daß die stomakale Wirksamkeit gegenüber dem Reinheitsgrad des Harnextraktes sich umgekehrt proportional verhält. Dies wurde dadurch erklärt, daß bei Gewinnung des Extraktes durch Abtrennung des oral stärker wirksamen Oestriols und Anreicherung des subkutan wirksameren Oestrons das Verhältnis von subkutan zu oral bei steigenden Reinheitsgraden sich immer mehr vergrößert. (Oestriol ist subkutan $^1/_{12}$ so stark, oral bei Schlundsondenfütterung dagegen sechsmal so wirksam wie Oestron.)

Bei Bestimmung des Follikelhormonspiegels im Blut hat sich gezeigt, daß die Hormonmenge, die unmittelbar nach Applikation immer erhöht ist, innerhalb von sehr kurzer Zeit auf ihre ursprüngliche Höhe zurückgeht. Daraus läßt sich entnehmen, daß das Follikelhormon im Organismus sehr schnell inaktiviert wird. Die Hauptmenge wird, wie Zondeck als erster durch Versuche mit Leberbrei in vitro beweisen konnte, irreversibel, wahrscheinlich fermentativ in der Leber zerstört. Peroral verabreichtes Follikelhormon muß also weniger wirksam sein als das unter Umgehung des Leberkreislaufes parenteral zugeführte, da die im Darm resorbierten Substanzen durch den Pfortaderkreislauf der Leber zugeführt werden.

Hohlweg hat diese Erkenntnisse berücksichtigt und Follikelhormon perlingual verabfolgt. Er berichtete, daß er eine bedeutend bessere Wirkung feststellen konnte, wenn die Hormone nicht mit der Schlundsonde gegeben, sondern den Tieren in das Maul getropft wurden. Oestradiol war in 40-prozentiger alkoholischer Lösung bei Ratten mit Schlundsonde zugeführt: mit 30—40 gamma, in das Maul getropft: mit 5—6 gamma wirksam, da ein beträchtlicher Teil des Hormons in der Mundschleimhaut und im Oesophagus resorbiert wird und damit der Inaktivierung in der Leber entgeht.

Um den Blutzirkulationsweg und evtl. Resortionsunterschiede zu vermeiden, versuchten zahlreiche Autoren, das Follikelhormon durch lokale Applikation möglichst unverändert an das Ziel heranzuführen. Berger konnte in Explantationsversuchen zeigen, daß eine direkte Wirkung, un-

abhängig von nervöser Beeinflussung, ohne Zwischenschaltung anderer Organe tatsächlich möglich ist. In vitro mit Oestron behandelte Vaginalschleimhautstückchen geschlechtsreifer, kurze Zeit vorher kastrierter Ratten zeigten eine deutliche Reaktion im Sinne einer weiteren Differenzierung des Gewebes. Bei infantilen Ratten jedoch sind die Versuche ohne Erfolg geblieben, so daß es scheint, daß bereits hormonal beeinflußtes Gewebe durch die Sensibilisierung sich reaktionsbereiter verhält.

In zahlreichen tierexperimentellen Untersuchungen hat sich herausgestellt, daß bei lokaler Anwendung von Hormonen mit wesentlich geringeren Dosen ein Effekt erzielt werden konnte als bei parenteraler (subkutaner oder intramuskulärer) oder oraler Applikation. Berger teilte mit, daß bei vaginaler Verabreichung bei der Ratte schon $^1/_{12}$ der parenteralen Dosis genügt, um Oestrus zu erzeugen (1 Rateneinheit = 5 ME, nach Laqueur 1 RE = 3 ME). Er berichtete ferner, daß die kleinste Menge, mit welcher er bei subkutaner Verwendung bei Ratten Oestrus bewirken konnte, 6,25 ME beträgt, daß aber dagegen bei vaginaler Verabreichung nur 5 ME oder auch nur 3 ME genügten, und daß sogar kleinste Mengen von 0,25 ME = $^1/_{20}$ RE sich als wirksam erwiesen und oestrisches Bild des Vaginalabstriches zur Folge hatten. Eine zeitliche Differenzierung im Auftreten des Oestrus der verschieden behandelten Tiere konnte nicht beobachtet werden. Loewe und Voss stellten in einer Untersuchung über die „Plazenta als Spender örtlich wirksamen Hormones" fest, daß eine ölige Plazentarhormonlösung in den Uterus eines Meerschweinchens gespritzt, durch kontinuierliche Berieselung der Vagina im Abstrich proestrisches Stadium erzeugte (Ansteigen der prozentualen Beteiligung der kernlosen Epithelien = Schollen), während subkutan verabreicht, die fünffache Dosis erst den gleichen Effekt hatte.

Powers, Varley und Morell untersuchten an Affen und Ratten die vaginale Follikulinwirksamkeit und fanden, daß die Dosis der vaginalen Ratteneinheit etwa $^1/_3$ der subkutanen beträgt. Im übrigen wiesen sie darauf hin, daß bei der vaginalen Applikation die Wirkung ungleichmäßig sei. Clauberg berichtete in einer ausführlichen Zusammenstellung, daß die spezifische Reaktion der einzelnen Teile des Genitaltraktes auf Follikelhormon bei den verschiedenen Tieren und Menschen unterschiedlich ist, d. h. daß bei der Ratte und Maus die Vagina, bei Meerschweinchen die Cervix und bei Kaninchen und Menschen das Endometrium für das Follikelhormon besonders empfänglich und reaktionsbereit sind. Lyons und Templeton gaben an, daß sie bei Ratten eine Verhornung des Vaginalepithels, d. h. Oestrus mit $^1/_{200}$ der subkutanen Dosis erzielen konnten. McGinty,

Anderson, McCallough teilen mit, daß sie 0,2 bis 0,5 gamma synthetisch gewonnenes, chemisch reines Progesteron in ein doppelseitig abgebundenes Stück des Uterushornes eines mit Oestron vorbehandelten infantilen Kaninchens injizierten und eine Wirkung beobachten konnten.

Auch für männliche Sexualhormone ist eine stärkere Wirkung bei lokaler Applikation nachgewiesen worden. Fußgänger erzielte bei direkter Aufpinselung auf den Kamm von Kapaunen ein hundertfach stärkeres Wachstum des Kammes als bei Injektion in den Brustmuskel. Durch den Umweg über den Blutkreislauf wird die Wirkung des Follikelhormons im Verhältnis zur örtlichen Applikation also bis auf $^1/_{200}$ reduziert.

3. Für die Erreichung der Schwellenkontration am Erfolgsorgan sind auch die Anzahl und Höhen der verabfolgten Dosen ausschlaggebend. Erst nach genügend langer Einwirkung der applizierten Substanz kann es zu einer Reaktion kommen; demnach soll der Zeitfaktor der Wirkung zu berücksichtigen sein.

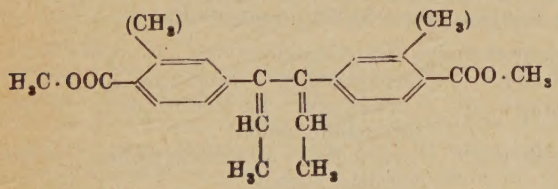
Außer den natürlichen Follikelhormonen gibt es eine große Anzahl von Substanzen, die oestrogen hochwirksam sind, obwohl sie chemisch nicht die geringste Beziehung zum Follikelhormon besitzen und auf synthetischem Wege gewonnen werden. Dodds und Mitarbeiter, die als erste die oestrogene Wirkung synthetischer Phenantrenderivate untersuchten, konnten feststellen, daß der Erfolg nicht unbedingt von dem Phenantrenskelett der natürlichen Follikelhormone abhängig ist. Es gelang ihnen, eine Substanz darzustellen, die subkutan nur wenig stärker, jedoch mit der Schlundsonde verabreicht, sich zwanzigmal so wirksam wie Oestron erwies. Dies war ein Stilbenderivat, das „Dioxydiäthylstilben", das wegen seiner hohen Wirksamkeit „Stilboestrol" genannt wurde.

Seitdem sind über 100 synthetische oestrogene Verbindungen verschiedener Wirkungsgrade entwickelt worden, die sich den natürlich oestrogenen Substanzen gegenüber dadurch auszeichnen, daß sie therapeutisch auch oral in dem gleichen Maße wirksam sind wie die natürlich oestrogenen Stoffe bei parenteraler Verabreichung. Die klinischen Untersuchungen zeigten jedoch, daß in zahlreichen Fällen ihre Verwendung mit toxischen, hauptsächlich intestinalen Nebenerscheinungen, Mattigkeit, Übelkeit und Erbrechen verbunden ist. Die Möglichkeit, die hohe perorale Wirksamkeit der synthetischen oestrogenen Substanzen auszunutzen, ist erst gegeben, seitdem es gelungen ist, durch Verabreichung veresterter Formen die unerwünschten Begleiterscheinungen meistens zu verhindern.

Die Synthese von Stiloestrol durch Dodds und seine Mitarbeiter und die spätere Entwicklung anderer synthetischer

oestrogener Substanzen haben ein weit verbreitetes Interesse für die klinische Anwendung dieser Substanzen hervorgerufen. Bei der Suche nach einer idealen oestrogenen Substanz wurden zunächst Prüfungen der klinischen Wirkung der hexadienen Substanzen Dodds, die von der British general medical Council die Bezeichnung Dienoestrol erhielten, durchgeführt. Über die chemischen und physiologischen Eigenschaften des Dienoestrol konnten Dodds und seine Mitarbeiter 1938 berichten. Der chemische Aufbau des Dienoestrol zeigt, daß es sich vom Hexoestrol und Stilboestrol in bezug auf die Zahl seiner Doppelbindungen (Grad der Sättigung) in seinem molecularen Aufbau unterscheidet. Die beiden Doppelbindungen in den jeweiligen Seitenketten werden für die stärkere biologische Aktivität der gewonnenen Substanz verantwortlich gemacht.

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Prüfung der Wirksamkeit oestrogener Substanzen bei lokaler Applikation auf das Scheidenepithel das oestrogene Hexadienderivat, das von Hohlweg und Mitarbeitern im Laboratorium der Universitäts-Frauenklinik der Charieté entwickelte Diacetat des Dienoestrol*), in klinischen Versuchen verwendet.



Durch Probeexcision aus der Vagina vor, während und nach der Behandlung und durch cytologische Abstrichuntersuchungen vor, während und nach der Behandlung wurde die Wirkung der applizierten Oestrogensubstanz getestet.

Erläuterung der histologischen und cytologischen Diagnostik

Bei der geschlechtsreifen Frau wird normalerweise in Anlehnung an Dierks der verhornende Typ der Scheidenepithelstruktur gefunden.

Fünf verschiedene Epithellagen sind zu unterscheiden:

1. Verhornende Schicht
   Funktionalis nach Dierks
   Stratum corneum,
2. Intraepitheliale Zone
   Verhornungszone nach Dierks
   Verdichtungszone nach Stemshorn,

*) Als Farmacyrol-V der Firma Farmaryn-Arzneimittel, Ernst Hannss, Berlin-Charlottenburg 2, im Handel.

3. Intermediäre oder Navikularzone
   Stratum spinosum superficiale,
4. Äußere Basalzone oder Parabasalzone
   Stratum spinosum profundum,
5. Innere Basalzone
   Stratum cylindricum.

Die Rückbildungsvorgänge am Epithel in der Menopause gehen meist in langen und sehr unterschiedlichen Zeiträumen vor sich. Häufig sind fließende Übergänge bis zur endgültig senilen Schleimhaut zu erkennen. Bei der allmählichen Rückbildung sind nach Geist und Salmon vier verschiedene Stadien zu beobachten:

1. Vollständige Atrophie,
2. Atrophie mittleren Grades,
3. Beginnende Atrophie,
4. Normale Epithelverhältnisse.

Histologisch finden sich:

im 1. Stadium: nur wenige Zellagen (1—6), keine Papillen mehr, oftmals Rundzelleninfiltration;
im 2. Stadium: 4—10 Zellagen. Stellenweise Zellen der mittleren und oberflächlichen Schicht;
im 3. Stadium: deutliche Dreischichtung;
im 4. Stadium: normale Scheidenverhältnisse.

Cytologisch finden sich (Gradeinteilung nach A. Schmidt):

bei Grad I: ausschließlich Parabasalzellen;
bei Grad I—II: vorwiegend Parabasalzellen, vereinzelt Intermediärzellen;
bei Grad II—I: vorwiegend Intermediärzellen, vereinzelt Parabasalzellen;
bei Grad II: ausschließlich Intermediarzellen;
bei Grad II—III: vorwiegend Intermediärzellen, vereinzelt Zellen der inneren Oberflächenzone;
bei Grad III—II: vorwiegend Zellen der inneren Oberflächenzone, vereinzelt Intermediärzellen;
bei Grad III: zwei Möglichkeiten
a) Zellen der inneren Oberflächenschicht,
b) Zellen der äußeren Oberflächenschicht, gefältet und in Gruppen liegend mit schmutzigem Untergrund und Leucocyten;
bei Grad III—IV: überwiegend Zellen der äußeren Oberflächenschicht, vereinzelt Zellen der inneren Oberflächenschicht, Zellen einzeln und ausgebreitet liegend, Untergrund klar, wenig Leucocyten;
bei Grad IV—III: nahezu ausschließlich Zellen der äußeren Oberflächenzone, Zellen ausgebreitet einzeln liegend, keine Leucocyten.

Nach Papanicolaou und Traut sind drei Ausstrichtypen in der Menopause zu unterscheiden:

1. der Praemenstruelle Typ der Menopause,
2. der dichte Typ der Menopause (Haufentyp),
3. der strophische Typ der Menopause.

Nach P u n d e l lassen sich die Zellbefunde in zwei große Gruppen einordnen, in die alle vorkommenden Bilder eingereiht werden können:

1. die unvollständige postmenopausale Periode
   a) Stadium der beginnenden Menopause,
   b) mittleres Stadium der Menopause,
   c) fortgeschrittenes Stadium der Menopause (Übergang vom ersten zum zweiten Stadium)
2. die senile Periode.

B. Methodik der Untersuchungen

Es wurden insgesamt 65 Frauen im Alter von 47 bis 75 Jahren, die sich alle in der Menopause befanden, behandelt. Da bei diesen Frauen die körpereigene Hormonproduktion weitgehend ausgeschaltet war, fanden sich für eine exakte Beurteilung der Dosierung optimale Vorbedingungen.

Die verwendeten Tabletten wurden vaginal in der Dosierung von 0,05 mg, 0,1 mg, 0,15 mg, 0,2 mg, 0,3 mg, 0,5 mg, 1 mg und 2,5 mg Dienoestroldiacetat unter Zusatz von Acid. boric., Calcium lact. und Dextrose und Leertabletten der gleichen Größe und Zusammensetzung, jedoch ohne Dienoestroldiacetat verabfolgt.

Im ganzen wurden 732 cytologische Abstriche und 124 Probeexcisionen mit 174 Schnitten angefertigt.

Das Z e l l m a t e r i a l wurde durch vorsichtiges Ausstreichen mittels eines Holzspatels aus dem (rechten) seitlichen Scheidengewölbe gewonnen, da an dieser Stelle am wenigsten mit störenden Beimengungen aus dem Cervikalkanal zu rechnen ist. Das mit dem Spatel gewonnene Material wurde auf einem Objektträger dünn ausgestrichen, sofort in Äther-Alkohol fixiert und später mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Die G e w e b s s t ü c k c h e n wurden aus dem mittleren Drittel der Scheidenhinterwand excidiert, wie üblich fixiert und geschnitten; die histologischen Präparate wurden mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Die gesamte Gruppe der untersuchten Frauen läßt sich wie folgt aufgliedern:

Gruppe I:

7 Frauen waren im Alter von 51 bis 67 Jahren und befanden sich mindstens 2 und längstens 28 Jahre in der Menopause; sie wurden mit täglich 0,15 mg 0,05 mg Dienoestroldiacetat-Tabletten behandelt.

Gruppe II:

9 Frauen waren im Alter von 57 bis 74 Jahren; sie befanden sich mindestens 6 und längstens 25 Jahre in der Menopause und wurden täglich mit 0,1 mg Dienoestroldiacetat-Tabletten behandelt.

Gruppe III:

6 Frauen waren im Alter von 48 bis 69 Jahren und befanden sich mindestens 4 und längstens 28 Jahre in der Meopause; sie wurden mit täglich 0,15 mg Dienoestroldiacetat-Tabletten behandelt.

Gruppe IV:

1 Frau war im Alter von 72 Jahren und befand sich als Frühkastratin 48 Jahre in der Menopause. Die Behandlung erfolgte mit täglich 0,2 mg Dienoestroldiacetat-Tabletten.

Gruppe V:

6 Frauen waren im Alter von 47 bis 66 Jahren und befanden sich mindestens 4 und längstens 15 Jahre in der Menopause; sie wurden täglich mit 0,3 mg Dienoestroldiacetat-Tabletten behandelt.

Gruppe VI:

a) 7 Frauen waren im Alter von 69 bis 74 Jahren und befanden sich mindestens 25 und längstens 32 Jahre in der Menopause; sie wurden mit täglich 0,5 mg Dienoestroldiacetat-Tabletten behandelt;

b) 3 Frauen waren im Alter von 66 bis 71 Jahren und befanden sich mindestens 18 und längstens 34 Jahre in der Menopause; sie wurden zunächst täglich mit 0,5 mg und dann mit täglich 2,5 mg oestroldiacetat-Tabletten behandelt.

Gruppe VII:

6 Frauen waren im Alter von 60 bis 71 Jahren; sie befanden sich mindestens 21 bis 48 Jahre in der Menopause und wurden mit täglich 1 mg Dienoestroldiacetat-Tabletten behandelt.

Gruppe VIII:

10 Frauen waren im Alter von 49 bis 77 Jahren und befanden sich mindestens 8 und längstens 27 Jahre in der Menopause; sie wurden mit täglich 2,5 mg Dienoestroldiacetat-Tabletten behandelt.

Gruppe IX:

10 Frauen im Alter von 54 bis 69 Jahren, mit mindestens 8- bis 22jähriger Menopause, wurden mit Leertabletten behandelt.

Als Ausdruck einer fehlenden körpereigenen oder künstlichen hormonalen Stimulierung des Vaginalepithels ließen die Zellbilder der meisten Frauen charakteristische Zeichen eindeutiger Atrophie erkennen. In diesen Ausstrichen fanden sich vorwiegend Parabasalzellen: kleine runde Zellen, die dem stratum spinosum profundum entstammen und einen basophilen Plasmaleib mit bläschenförmigen, fein granulierten Kernen besitzen. Ihr Durchmesser beträgt (8) 13—25 gamma, der Durchmesser des Kerns (3) 8—11 gamma (Boschann).

Eine größere Anzahl der zu den Untersuchungen herangezogenen Frauen zeigte in den histologischen und cytologischen Bildern Anzeichen mittlerer Proliferationshöhe, wie sie bei einem großen Teil der Frauen in der Menopause vorgefunden werden und auf die Einwirkung androgener bzw. adrenogener Substanzen der Nebenniere nach Erlöschen der Ovarialfunktion zurückgeführt werden müssen. Auch an diesen Frauen konnte ohne weiteres eine Testung vorgenommen werden, da im Gegensatz zu den androgenen nur östrogene Substanzen die Eigenschaft besitzen, eine Proliferation bis in die verhornte Oberflächenschicht, d. h. bis zu Zellen mit acidophilem Plasma und pyknotischem Kern hervorzurufen (Boschann).

Frauen mit infektiösen Prozessen der vagina wurden von den Untersuchungen ausgeschlossen, da in Gegenwart von Bakterien Acidophilie und Kernpyknosen auftreten können und dadurch ein östrogener Proliferationseffekt vorgetäuscht werden würde.

Desgleichen wurden keine Frauen mit vorhergegangener Röntgen- oder Radiumbestrahlung behandelt, da durch Schädigung der Keimschicht des Vaginalepithels noch nach mehreren Jahren Veränderungen der Plattenepithelzellen und Verschiebung der Kernplasmareaktion beobachtet worden sind.

Da bei der Wiederholung von Abstrichuntersuchungen regelmäßig in einer kleineren Anzahl von Fällen ohne erkennbare Ursache an Stelle der ursprünglichen Atrophie Spontanproliferation bis zu höheren Schichten festgestellt worden ist, wurden vor Beginn der Behandlung mehrfache Abstriche in verschiedenen Zeitabständen angefertigt, um eine permanente Atrophie des Vaginalepithels zu sichern. Gegebenenfalls wurden Frauen, die Anlaß zu Fehldeutungen hätten geben können, von der Untersuchungsreihe ausgeschlossen.

C. Ergebnisse der Untersuchungen

Gruppe I: **Tägliche Behandlung mit 0,05 mg Dienoestroldiacetat.** Die Ausgangszellbilder zeigten bei allen Frauen hauptsächlich Zellen der Parabasalzone, vereinzelte Zellen der inneren Basalzone und der Intermediärschicht, oftmals sehr viele Leucocyten (Abb. 1).

In den während der Behandlung vorgenommenen Abstrichuntersuchungen fanden sich:

nach 1-tägiger Behandlung vorwiegend Zellen der Parabasalzone neben wenigen Zellen aus der inneren Basalzone,

nach 2-tägiger Behandlung wenige Zellen der Parabasalzone und vorwiegend Zellen der intermediären Schicht (Abb. 2),

nach 4-tägiger Behandlung regelmäßig wenige Zellen aus der Parabasalzone, mäßig viele Zellen aus der intermediären Schicht und wenige Zellen mit angedeuteter Karyopyknose, keine Leucocyten,

nach 6-tägiger Behandlung viele Zellen aus der intermediären Zone und vereinzelt karyopyknotische Zellen (Abb. 3),
nach 7- und 8-tägiger Behandlung keine wesentliche Weiterdifferenzierung,
nach 9-tägiger Behandlung sehr viele Zellen der intermediären und karyopyknotischen Schicht, ungefähr zu gleichen Teilen,
nach 12- und 13tägiger Behandlung reichlich karyopyknotische Zellen, reines Zellbild, die Zellen scharf konturiert (Abb. 4).
Bei Fortsetzung der Behandlung bis zu einer Dauer von insgesamt 35 Tagen wurde eine Veränderung des Zellausstriches im Sinne einer weiteren Proliferation und Differenzierung nicht festgestellt.
Nach Beendigung der Behandlung zeigten sich erst am 4.Tage neben scharf konturierten Zellen der äußeren Oberflächenschicht und zu einem geringeren Anteil Zellen der intermediären Schicht in Auflösung begriffene Zellen mit verwaschener Struktur. Am 8. bis 10. Tage fanden sich erstmalig neben Zellen der intermediären Schicht, die teilweise mit unscharfer Konturierung im Verband lagen, Zellen der Parabasalzone; außerdem waren reichlich Zelldetritus und mäßig viele Leucocyten vorhanden. Ungefähr am 20. Tage waren die cytologischen Ausgangsbilder anzutreffen, d. h. in den Ausstrichpräparaten waren hauptsächlich Zellen der Parabasalzone und vereinzelte der inneren Basalzone anzutreffen.

Gruppe II: **tägliche Behandlung mit 0,1 mg Dienoestroldiacetat**
Die Ausgangszellbilder zeigten bei allen Patienten Zellen der Parabasalzone und inneren Basalzone.
In den während der Behandlung vorgenommenen Abstrichuntersuchungen fanden sich:
nach 2-tägiger Behandlung vorwiegend Zellen der intermediären Schicht und ganz vereinzelt Parabasalzellen,
nach 6-tägiger Behandlung bereits u. a. praekaryopyknotische Zellen,
nach 10-tägiger Behandlung reichlich karyopyknotische Zellen,
nach 12-tägiger Behandlung nur Zellen der karyopyknotischen Schichten,
nach 20-tägiger Behandlung desgleichen nur Zellen der karyopyknotischen Oberflächenschicht.
Auch bei weiterer Behandlung bis zu insgesamt 40 Tagen keine Veränderung im Sinne einer Weiterdifferenzierung.

Nach Beendigung der Behandlung fanden sich:
am 6. Tage neben dicht, aber isoliert liegenden Zellen der intermediären Zone nur noch geringe Anteile aus der karyopyknotischen Oberflächenzone mit teilweise unscharfer Konturierung,

am 14. bis 16. Tage vorwiegend Zellen aus der intermediären Schicht, vereinzelt Zellen mit karyopyknotischen Kernen und Parabasalzellen,
am 25. Tage gleiche Befunde, in 2 Fällen noch am 29. und 30. Tage einzelne karyopyknotische Zellen;
erst am 48. Tage hauptsächlich Zellen der Intermediärschicht und Parabasalzone.

Gruppe III: **tägliche Behandlung mit 0,15 mg Dienoestroldiacetat**
In den Ausgangszellbildern v o r der Behandlung waren nur Zellen aus der Parabasalzone und in einzelnen Fällen viele dicht liegende Leucocyten vorhanden.
In den während der Behandlung vorgenommenen Abstrichuntersuchungen fanden sich:
nach 3-tägiger Behandlung Zellen teils einzeln, teils im Verband liegend aus der karyopyknotischen Schicht und in geringerer Anzahl aus der intermediären Schicht,
nach 6-tägiger Behandlung sehr viele Zellen aus der karyopyknotischen Schicht und einzelne aus der intermediären Schicht, keine Leucocyten,
nach 11tägiger Behandlung scharf konturierte Zellen aus der karypyknotischen Oberflächenzone und einzelne Granularzellen,
nach 20-tägiger Behandlung erstmalig u. a. Zellen mit zugrunde gehendem und bereits untergegangenem Kern.
Nach Beendigung der Behandlung fanden sich:
am 8. Tage Zellen der intermediären Schicht und Karyopyknosen,
am 14. Tage dazu noch reichlich Leucocyten,
am 20., 30., 40. und 50. Tage unveränderte Zellbilder;
erst am 60. Tage neben unscharf konturierten Zellen der intermediären Schicht vereinzelt Parabasalzellen, außerdem noch wenige Zellen der karyopyknotischen Oberflächenschicht.

Gruppe IV: **tägliche Behandlung mit 0,2 mg Dienoestroldiacetat**
Im Ausgangszellbild v o r der Behandlung waren nur Zellen der Parabasalzone, viele Leucocyten und infolge entzündlicher Veränderungen, durch petechiale Blutungen bedingt, einige Erythrocyten vorhanden.
In der nach 27-tägiger Behandlung vorgenommenen Abstrichuntersuchung fanden sich in der Haupsache wieder Parabasalzellen und nur einige wenige Zellen der intermediären Zone, so daß von einer nur geringen Reaktion gesprochen werden kann. Diese Wirkung hielt jedoch über längere Zeit an.
Bei allmählicher Verringerung der Anzahl der Zellen aus der intermediären Schicht waren erst am 40. Tage nach Beendigung der Behandlung wieder die Ausgangszellbilder vor-

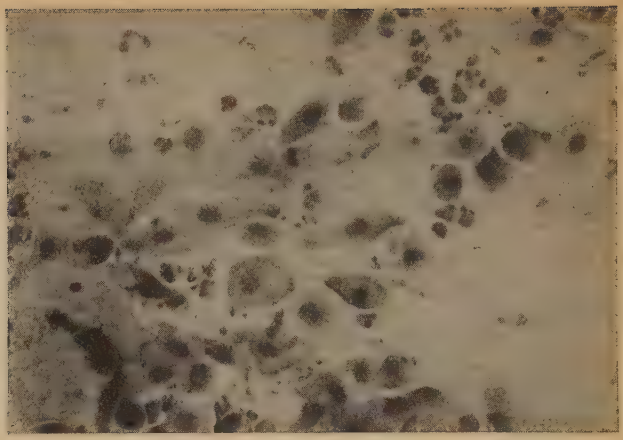


Abb. 1 (Vergrößerung 360×) Zahlreiche Parabasalzellen und vereinzelt Zellen der Intermediärschicht im Vaginalausstrich einer 57jähr. Frau (Grad I—II). Histologisches Bild siehe Abb. 5

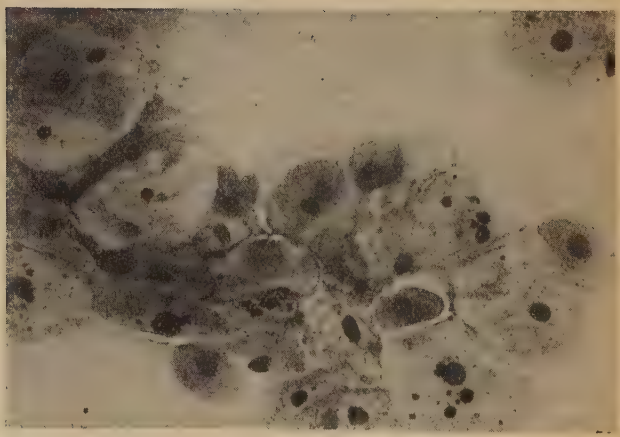


Abb. 2 (Vergrößerung 360 ×) Vorwiegend Zellen der intermediären Schicht, einige wenige Zellen aus der Parabasalzone (Grad II—I). Ausstrichpräparat derselben Frau nach 2-tägiger Behandlung mit je 0,05 mg Dienoestroldiacetat

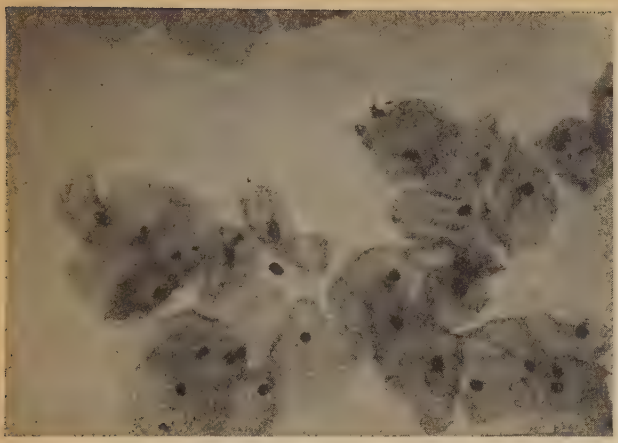


Abb. 3 (Vergrößerung 360 ×) Viele Zellen aus der intermediären Zone, vereinzelt karyopyknotische Zellen (Grad II—III). Ausstrichpräparat derselben Frau nach 6-tägiger Behandlung mit je 0,05 mg Dienoestroldiacetat

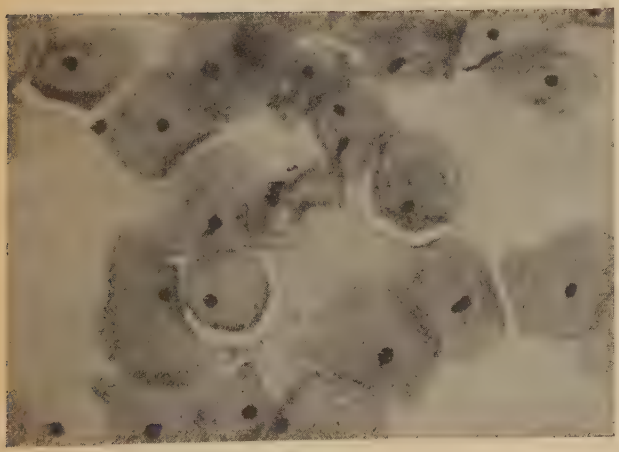


Abb. 4 (Vergrößerung 360 ×) Reichlich karyopyknotische Zellen, reines Zellbild (Grad IV—III). Ausstrichpräparat derselben Frau nach 14-tägiger Behandlung mit je 0,05 mg Dienoestroldiacetat. Histologisches Bild siehe Abb. 6

Abb. 5 (Vergrößerung 80 ×) Histologisches Bild des Scheidenepithels derselben Frau vor der Behandlung. Atrophie mittleren Grades

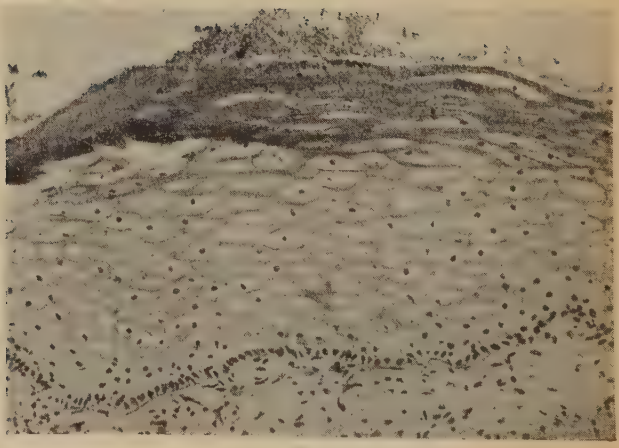


Abb. 6 (Vergrößerung 80×) Histologisches Bild des Scheidenepithels derselben Frau nach 14-tägiger Behandlung mit je 0,05 mg Dienoestroldiacetat. Deutliche Proliferation und Dreischichtung des stark aufgelockerten Plattenepithels.

zufinden. Da bei gleicher Dosierung und entsprechendem Alter gleiche Untersuchungen nicht vorgenommen worden sind und eine exakte Verabfolgung der Tabletten in dem beschriebenem Falle nicht ohne weiteres mit Sicherheit angenommen werden konnte, waren allgemeine Rückschlüsse aus dem Versuch nicht abzuleiten.

Gruppe V: **tägl. Behandlung mit 0,3 mg Dienoestroldiacetat**

Der Menopause entsprechend fanden sich in den Ausgangszellbildern nur Zellen aus der Parabasalzone.

In den während der Behandlung vorgenommenen Abstrichuntersuchungen fanden sich:

nach 3-tägiger Behandlung nur noch Zellen der Intermediärschicht,

nach 5-tägiger Behandlung bereits Anteile der karyopyknotischen Oberflächenzone,

nach 10-tägiger Behandlung viele Zellen der karyopyknotischen Oberflächenschicht,

bei weiterer Behandlung bis zum 28. Tage keine Veränderungen.

Nach Beendigung der Behandlung fanden sich am 5. Tage hauptsächlich Zellen der karyopyknotischen Schicht und zu einem geringen Anteil der intermediären Schicht,

am 9. Tage verwaschene Zellen mit unscharfer Konturierung und nur einige gut erhaltene, dicht im Verband liegende Zellen aus der karyopyknotischen Schicht und der Intermediärzone,

am 15. Tage das gleiche Bild, nur zusätzlich einige Leucocyten,

am 20. Tage das gleiche Bild mit vielen Leucocyten,

am 30. Tage viele im Verband liegende Zellen aus der intermediären Schicht und teilweise einzeln liegende Parabasalzellen, sehr viele Leucocyten,

vom 40. Tage an allmähliche Zunahme der Zellen aus der Parabasalzone,

am 60. Tage die Zellbilder des Ausgangspräparates.

Gruppe VI:

a) **tägliche Behandlung mit 0,5 mg Dienoestroldiacetat.**
Die Ausgangszellbilder zeigten bei allen Frauen vorwiegend Zellen aus der Parabasalzone und einige meist im Verband liegende Zellen der intermediären Schicht. In den während der Behandlung vorgenommenen Abstrichen fanden sich:

nach 6-tägiger Behandlung scharf konturierte, dicht liegende Zellen aus der Intermediärzone und der karyopyknotischen Schicht,

nach 10-tägiger Behandlung nur noch Zellen der karyopyknotischen Schicht,

nach Beendigung der Behandlung am 4. Tage dicht liegend massenhaft viele Zellen aus der karyopyknotischen Oberflächenzone und der intermediären Schicht,
am 10. Tage die gleichen Zellbilder,

am 20. Tage meistens nur wenige Zellen, hauptsächlich aus der parabasalen Schicht und wenige aus der intermediären Schicht.

b) 3 Frauen wurden zunächst mit 0,5 mg pro Tag behandelt. Im Ausgangspräparat fanden sich bei allen Frauen meist im Verband liegende Zellen aus der Intermediärschicht. In den nach **6-tägiger Behandlung** vorgenommenen Abstrichuntersuchungen fanden sich scharf konturierte Zellen, hauptsächlich aus der karyopyknotischen Schicht und wenige aus der Intermediärzone. Die Fortsetzung der Behandlung erfolgte mit täglich 2,5 mg Dienoestroldiacetat für die Dauer von 8 Tagen.

Die am **8. Tage der Behandlung** angefertigten cytologischen Abstrichpräparate ergaben: scharf konturierte Zellen aus der karyopyknotischen Oberflächenzone, einzelne Zellen aus der Intermediär- und Granularschicht, einige Zellen mit untergehenden Kernen.

Nach Beendigung der Behandlung wurden eindeutige Veränderungen der cytologischen Bilder erst um den 12. Tag beobachtet. Es fanden sich sehr dicht liegende Zellen mit teilweise unscharfen Konturen, hauptsächlich aus der Intermediärzone, einige wenige Zellen mit Karyopyknosen und einzelne Parabasalzellen.

Gruppe VII: **tägliche Behandlung mit 1,0 mg Dienoestroldiacetat**

Die Ausgangszellbilder zeigten bei allen Frauen Parabasalzellen, teils isoliert, teils in Haufen liegend, und sehr wenige Zellen der intermediären Schicht.

In den während der Behandlung vorgenommenen Abstrichuntersuchungen fanden sich:

nach 4-tägiger Behandlung sehr viele dicht liegende Zellen aus der intermediären Schicht neben wenigen Parabasalzellen,

nach 15-tägiger Behandlung Zellen aus der intermediären Schicht, einige Granularzellen und Zellen der karyopyknotischen Oberflächenzone,

nach 21-tägiger Behandlung wenige Zellen der intermediären Zone, hauptsächlich Zellen der karyopyknotischen Oberflächenschicht, einige Schollen,

nach Beendigung der Behandlung fanden sich am 5. Tage in großen Verbänden liegende Zellen aus der Oberflächenzone und der Intermediärschicht, Auflösung der Kernmembran und der Kernstruktur, wenige Leucocyten,

am 16. Tage ein durch überwiegende Anzahl von Leucocyten nahezu verdecktes Epithelbild mit wenigen Zellen aus der Intermediär- und Parabasalzone,
am 25. und 35. Tage ähnliche Zellbilder wie oben,
am 40. Tage desgleichen,
am 60. Tage ursprüngliche Ausgangsbilder.

Gruppe VIII: **tägl. Behandlung mit 2,5 mg Dienoestroldiacetat**

Die Ausgangszellbilder zeigten bei allen Frauen der Menopause entsprechend nur Zellen aus der Parabasalzone. In den während der Behandlung vorgenommenen Abstrichuntersuchungen fanden sich:
nach 1-tägiger Behandlung vorwiegend Parabasalzellen, vereinzelt Zellen der Intermediärschicht,
nach 2-tägiger Behandlung vorwiegend Zellen der intermediären Schicht, vereinzelt Parabasalzellen,
nach 3-tägiger Behandlung vorwiegend Zellen der karyopyknotischen Oberflächenschicht, vereinzelt Zellen der intermediären Schicht,
nach 6-tägiger Behandlung nahezu ausschließlich Zellen der karyopyknotischen Oberflächenschicht,
nach 8-tägiger Behandlung teils in Gruppen, teils isoliert liegende Zellen aus der karyopyknotischen Oberflächenschicht, einige Schollen,
bei Fortsetzung der Behandlung bis zu insgesamt 12 Tagen keine Veränderungen.
Nach Beendigung der Behandlung fanden sich am 5. Tage gut erhaltene Zellen aus der karyopyknotischen Oberflächenschicht und Intermediärschicht,
am 10. Tage vorwiegend Intermediärzellen, vereinzelt Parabasalzellen, aufgelöste Zellen mit unscharfer Struktur, Zellreste und Kerntrümmer.

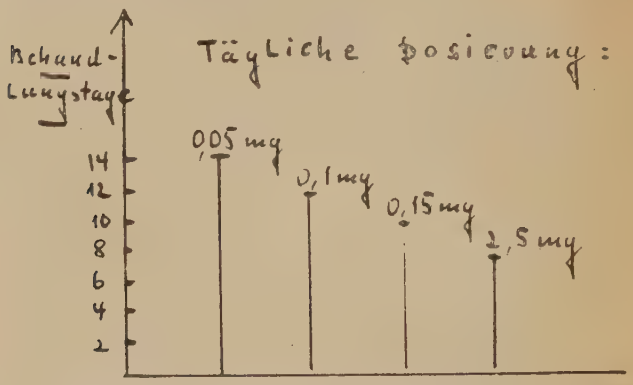
Gruppe IX: **tägliche Behandlung mit Leertabletten**

Die Ausgangszellbilder zeigten bei allen Frauen Zellen der Parabasalzone; die während und nach der Behandlung vorgenommenen Abstrichuntersuchungen und Probeexcisionen ergaben keinerlei Anzeichen einer cytologischen oder histologischen Reaktion.

Berechnung des Karyopyknoseindex

Um die Beurteilung der cytologischen Bilder, wie sie in den vorliegenden Untersuchungen nach den von Schmitt aufgestellten Grundsätzen der graduellen Unterteilung durchgeführt wurde, zu objektivieren, wurde die cytohormonale Diagnostik durch Berechnung des Karyopyknoseindex ergänzt. Der Karyopyknoseindex gibt durch Vergleich der Anzahl der pyknotischen Kerne mit der Zahl der vesiculären Kerne das Verhältnis der verhornten zu den unverhornten Oberflächenzellen an. Als pyknotische Kerne wurden nur diejenigen angesehen, die bei der Betrachtung im Phasen-

kontrastmikroskop hellrot aufleuchteten. Vesikuläre und praekaryopyknotische Kerne konnten auf diese Weise mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Auszählung erfolgte an je 200 Zellen in 4 verschiedenen Feldern der Präparate.
In der nachfolgenden graphischen Darstellung sind die Maximalwerte der Karyopyknoseindices in Abhängigkeit von der Höhe der Dosierung zu den verschieden sich ergebenden Zeitpunkten verzeichnet.



Maximalwerte der Karyopyknoseindices bei täglicher Dosierung der geprüften Substanz mit 0,05 mg, 0,1 mg, 0,15 mg und 2,5 mg

D. Diskussion der Ergebnisse

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde eine Testung der lokalen Wirksamkeit des Dienoestroldiacetates am Scheidenepithel der Frau vorgenommen. Es handelte sich bei der verwendeten Substanz nicht um ein Stilbenderivat, sondern um ein oestrogen wirksames Hexadienderivat mit zwei Doppelbindungen in den Seitenketten. Diesen Doppelbindungen wird die größere biologische Wirksamkeit des Stoffes zugesprochen. Zahlreiche Beobachtungen aus jüngster Zeit haben ergeben, daß spezifische histologische Effekte am gleichen Gewebe von der Zahl und Stellung einzelner Gruppen, der Stellung der Doppelbindung und der Oxydation im Molekül abhängig sind. Da die klinische Testung der verwendeten Substanz bei peroraler Applikation (H a h n) am proliferativen Aufbau der Uterusschleimhaut der Kastratin einen starken oestrogenen Effekt von langer Dauer ohne toxische Nebenerscheinungen bei höchster Dosierung ergab, lag es nahe, die Wirkung dieser Substanz bei örtlicher Applikation zu prüfen.
Die Testung am atrophischen Vaginalepithel besitzt die gleiche klinische Bedeutung wie die an der Entzugsblutung. Während die Entzugsblutung am Endometrium jedoch nur eine Phase charakterisiert, sind durch den Abstrichtest und histologische Untersuchungen am Vaginalepithel mehrere

Stufen der Oestrogenwirkung zu erfassen. Im Vergleich mit anderen Abschnitten des Genitaltraktes ist die Hormonempfindlichkeit der Scheide sehr groß. Nähere Zusammenhänge in der Wirkungsweise der Sexualhormone sind unbekannt. Eine Anreicherung mit radioaktiven Stoffen markierter Oestrogene in den verschiedenen Erfolgsorganen ist nicht beobachtet worden. Da beim Menschen eine klinische Einheit für die Wirkungsstärke der verschiedenen natürlichen und synthetischen Oestrogene bisher nicht festgelegt worden ist, sind vergleichende Untersuchungen in der Oestrogentestung schwieriger als beim Nagetier. Eine große Anzahl von Versuchen müßte angesetzt werden, um bei jeder einzelnen Frau mit fallender Dosierung das Phänomen der Oestrogengewöhnung auszuschließen; eine genügend große Gruppe geeigneter Frauen für eine statistisch gesicherte Auswertung hat sich bis jetzt nicht finden lassen.

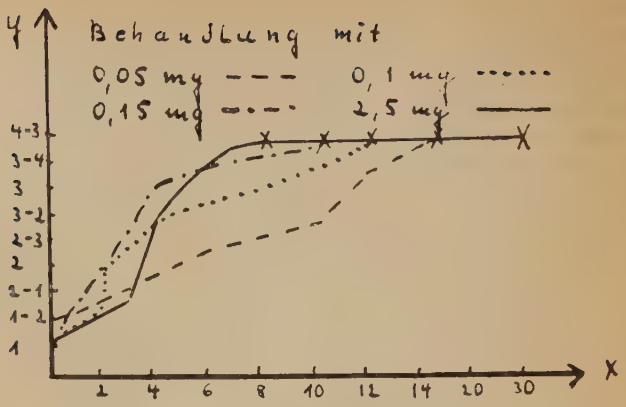
In der vorliegenden Arbeit wurden die Untersuchungen an 65 Frauen in der Menopause, die nach der unterschiedlichen Höhe der Behandlungsdosis in 9 Gruppen aufgeteilt wurden, durchgeführt. Eine Berücksichtigung der Länge der Menopause war nicht erforderlich; das Kriterium für die Auswahl der Fälle wurde durch die cytologischen und histologischen Bilder bestimmt. Es war wichtig, die Testung bei Frauen vorzunehmen, die sich in vergleichbarer Ausgangslage befanden. Die Demonstration der Behandlungsergebnisse erfolgte an Hand von cytologischen und histologischen Bildern, die alle unter gleichen Bedingungen angefertigt und photographiert wurden, und durch Bestimmung des Karyopyknoseindex. Es wurden mehr cytologische als histologische Bilder angefertigt, da mit Rücksicht auf die behandelten Frauen die Vornahme der Probeexcisionen auf ein Minimum beschränkt werden mußte.

Bei den L e e r - Versuchen war keinerlei Wirkung zu verzeichnen; infolgedessen wurde auf die Darstellung dieser Bilder verzichtet.

In der folgenden Abbildung sind die oben beschriebenen Ergebnisse graphisch dargestellt worden.

In dem Koordinatensystem ist auf der x-Achse die Zeit eingetragen, und zwar in der Weise, daß bis zum 30. Tage der Behandlung 2-tägige Abstände gewählt wurden. Da bei Fortsetzung der Behandlung über den 30. Tag hinaus keine weitere Differenzierung zu beobachten war, wurde zu diesem Zeitpunkt hypothetisch die Beendigung der Behandlung verzeichnet. Auf der y-Achse ist die Höhe der Schleimhautproliferation angegeben, wie sie im cytologischen Ausstrichbild nach A. S c h m i t t graduell unterteilt wird.

Zur besseren Unterscheidung der für die einzelnen Dosen charakteristischen Abläufe sind aus den insgesamt 8 behandelten Gruppen 4 Gruppen ausgewählt worden.



Auf der graphischen Darstellung sind 4 Kurven für die tägliche Dosierung von 0,05 mg, 0,1 mg, 0,15 mg und 2,5 mg Dienoestroldiacetat eingetragen worden. Alle 4 Kurven zeichnen sich durch einen ähnlichen Verlauf aus, der durch einen raschen Anstieg der proliferativen Wirkung innerhalb der ersten Tage nach Beginn der Behandlung charakterisiert ist. Der Höhepunkt des proliferativen Effektes, in der Kurve durch ein x markiert, wird jedoch in Abhängigkeit von der Höhe der Dosierung unterschiedlich schnell erreicht. Wenn auch der Faktor der relativ kleinen Zahl der in den verschiedenen Gruppen jeweils durchgeführten Untersuchungen mitberücksichtigt werden muß, so ist doch deutlich zu erkennen, daß dieser Höhepunkt der Proliferation mit der höchsten Dosierung von 2,5 mg Dienoestroldiacetat täglich auch am schnellsten erreicht wird. Die Bedeutung der Dosierung wird auch durch die Tatsache unterstrichen, daß die höchste Epitheldifferenzierungsstufe, die im Auftreten von verhornten Zellen ihren Ausdruck findet, durch Dosierung von 8mal 2,5 mg Dienoestroldiacetat am 8. Tage oder durch Dosierung von 20mal 1,0 mg täglich am 20. Tage festzustellen ist.

Das Abhängigkeitsverhältnis der morphologischen Hormonwirkung vom Dosis-Zeitfaktor wurde für die Oestrogenwirkung am Endometrium von B u s c h b e c k und für die Androgenwirkung am Vaginalepithel auch bei lokaler Applikation von B o s c h a n n bereits beschrieben. Ein Mindestspiegel des verabfolgten Hormons muß für eine bestimmte Mindestzeit auf die Keimschicht des Vaginalepithels einwirken, um einen proliferativen Effekt zu erzeugen. Dieser Spiegel ist bei lokaler Applikation leicht zu erreichen; bei peroraler und parenteraler Verabfolgung scheint nur ein sehr geringer Anteil der hormonalen Substanz das Erfolgsorgan zu erreichen. Aus diesem Grunde dauerte bei lokaler Applikation die Latenzzeit bis zum Auftreten der ersten cytologisch faßbaren Veränderungen nur wenige Stunden.

Eine Testung mit kleineren Dosen, als bisher in der Arbeit erwähnt wurde, ergab zu unsichere Resultate, so daß auf die Darstellung der gewonnenen Ergebnisse in diesem Rahmen verzichtet worden ist. Unterschwellige Dosen konnten in keinem Falle festgestellt werden. Maßgeblich für die Proliferation war in diesen Fällen immer die Dauer der Behandlung. Nach Absetzen der Behandlung zeigten die Kurven der Rückbildungsvorgänge unabhängig von der Dosierung einen zunächst steilen Abfall, ohne sich wesentlich voneinander zu unterscheiden. Im weiteren Verlauf zeigte es sich jedoch, daß die Rückbildung am schnellsten nach der schwächsten und stärksten Dosierung vor sich ging, daß jedoch bei den mittleren Dosierungen dieser Vorgang wesentlich langsamer abzulaufen schien. Die Kleinheit der Zahl der in den jeweiligen Gruppen behandelten Frauen gestattet nicht, unbedingt allgemein gültige Rückschlüsse zu ziehen, jedoch ist ohne weiteres ersichtlich, daß bis zu einer gewissen Grenze der Dosierung die Rückbildung um so langsamer erfolgt, je höher die vorausgegangene Dosierung und je länger die Applikation der getesteten Substanz war.

Für die klinische Anwendung des Dienoestroldiacetates ist auf Grund der Untersuchungen zu folgern, daß eine lokale Behandlung immer mit höheren Dosen begonnen werden muß, um einen möglichst schnellen proliferaten Effekt zu erzielen, daß jedoch die wesentlich geringere Dosis von 0,05 mg Dienoestroldiacetat, täglich lokal appliziert, zur Erhaltung diess proliferaten Effektes als ausreichend angesehen werden muß. Eine Blutung am Endometrium kann infolge niedriger Dosierung und Art der Applikation der verwendeten Substanz, da die Blutungsschwelle nicht erreicht wird, vermieden werden.

E. Zusammenfassung

Nach Darlegung der wichtigsten Abschnitte in der geschichtlichen Entwicklung der Forschung mit oestrogenen Substanzen wird über die lokale Applikation von Dienoestroldiacetat (einem synthetischen oestrogenen Hexadienderivat) berichtet. Zu den Untersuchungen wurden insgesamt 65 Frauen im Alter von 47 bis 75 Jahren, die sich alle in der Menopause befanden, herangezogen. Diesen Frauen wurden Tabletten verschiedenster Dosierungsstärke (0,05 mg, 0,1 mg, 0,15 mg, 0,2 mg, 0,3 mg, 0,5 mg, 1 mg und 2,5 mg Dienoestroldiacetat) vaginal appliziert. In regelmäßigen Abständen wurden während und nach der Behandlung cytologische und histologische Untersuchungen des Scheidenepithels vorgenommen. Die dabei gewonnenen Ergebnisse können in folgender Weise zusammengefaßt werden:

Das Dienoestroldiacetat erweist sich in Abhängigkeit von der Höhe der Dosierung, vaginal appliziert, oestrogen als

hochwirksam. Mit höherer Dosierung kann ein proliferativer Effekt schneller als mit kleinen Dosen erreicht werden, die Erhaltungsdosis erweist sich jedoch als wesentlich niedriger. Eine Blutung am Endometrium wird infolge niedriger Dosierung der verwendeten Substanz und Art der Applikation vermieden.

Nach Absetzen der Behandlung ist die Rückbildung der proliferierten Schleimhaut zunächst für alle behandelten Gruppen, unabhängig von der Dosierung, gleich, später am schnellsten bei der schwächsten und stärksten Dosierung und bei der mittleren Dosierung am meisten verzögert.

Literatur

1. Abderhalden: Vitamine, Fermente, Hormone. Thieme, Leipzig 1944. — 2. Albeaux-Fernet, Mazabraud, Robert: Semaine Hop. 1954, 4413 u. 4415. — 3. Berger: Klin. Wschr. 1935, 14, 1601 u. 1937, 16, 1428. — 4. Bomskov: Methodik der Hormonforschung. Thieme, Leipzig 1939. — 5. Boschann: Arch. f. Gynäk. 1955, 187, 39. — 6. Buschbeck: Münch. med. Wschr. 1952, 2471. — 7. Curtio and Doisy: J. Biol. chem. 1931, 91, 647. — 8. Davis, Kelsey, Fugo, Loucks, Horner, Voskuil: Metabolism. and excretion of estrine sulfatelabel. with radioact. sulfur (s 35). Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 74 501 (1950). — 9. Dirscherl u. Hanusch: Hoppe-Seylers Ztschr. f. phys. Chemie, 1935, 233, 13. — 10. Eckstein, Krohn, Zuckermann: The comparative potency of natural and synthed. oestrogens in the rhesus monkey. J. of Endocrin, 1952, 8 291. — 11. Finkler u. Becker: A preliminary ovulation of dienoestrol in the menopause. Amer. Journ. of obst. u. Gyn. 1947, 53, 513. — 12. Fußgänger: Medizin und Chemie, 1934, 2, 194. — 13. Mc. Ginty, Anderson, Mc. Callough: Endocrinology 1939, 24, 829. — 14. Huggins, Jensen, Cleveland: Chemical structure of steroids in relation to promotion of growth of the vagina and uterus of the hypophysectomized rat. J. of Exper. med. (1954) 100, 225. — 15. Laqueur, Hart, de Jongh u. Wijsenbeck: Dt. med. Wschr. 1926, 1, 4 und 1926, 2, 52. — 16. Laqueur, Hart, de Jongh: Dt. med. Wschr. 1926, 30, 1247, 1926, 32, 1331. — 17. Labhardt: Klinik der inneren Sekretion. Springer Berlin-Göttingen, Heidelberg 1957. — 18. Loewe: Zbl. f. Gynäk. 1925, 31, 1735. — 19. Loewe u. Lange: Zschr. f. exper. Mediz. 1927, 54, 188. — 20. Lyons und Templeton: Exper. Biol. and Med. 1936, 33, 587. — 21. Papanicolaou, Traut and Marchetti: The epithelia of womans' reproduct. organs. The Commonwealth Fund, New York 1948. — 22. Powers, Varley, Morell: Endocrinology 1929, 13, 395. — 23. Pundel: Les frottis vaginaux endocriniens Paris 1952. — 24. Schmitt: Eine Gradeinteilung für die funktionelle Cytodiagnostik in der Gynäkologie. Geburtsh. u. Frauenheilk. 1953, 13, 593. — 25. Schoeller, Dohrn u. Hohlweg: Wien. Archiv f. innere Medizin 1931, 21. — 26. Wied: Röntgen und Laborat. Prax. 1953, 6, 209. — 27. Zinser: Die Zytodiagnostik in der Gynäk. Fischer, Jena 1957.

Für die Überlassung des Themas und die fördernde Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit möchte ich an dieser Stelle Herrn Professor Dr. F. Schopohl, Herrn Dr. Boschann und Herrn Dr. H. Hahn herzlichst danken.

Anschr. d. Verf.: Berlin-Friedenau, Schmargendorfer Str. 16

Sonderdruck aus der Zeitschrift „Berliner Medizin" Heft 10, 9. Jahrgang 1958, Seite 214—223

Lebenslauf

Am 21. 9. 1924 wurde ich, Philipp Bernhardt, in Nizza als Sohn des Kaufmanns Alexander Bernhardt und seiner Ehefrau Eugenie, geb. Agahanian, geboren. 1931—1935 besuchte ich in Berlin die 10. Grundschule und 1935—1943 das Staatliche Französische Gymnasium, wo ich die Reifeprüfung bestand. Anschließend studierte ich an der Friedrich-Wilhelm-Universität Berlin Medizin und legte 1944 die Prüfung im Vorphysikum ab. Nach Ableistung des Wehrdienstes und Rückkehr aus russischer Kriegsgefangenschaft setzte ich das Medizinstudium an den Universitäten Berlin, Greifswald und München fort und bestand 1948 die Ärztliche Vorprüfung und 1952 an der Freien Universität Berlin das Ärztliche Staatsexamen. Seit Beendigung der Pflichtassistentenzeit 1953 bin ich als Assistenzarzt an der Städtischen Frauenklinik Berlin-Neukölln tätig.

Berlin, den 23. Juli 1957